中国生态农业学报 2017年1月 第25卷 第1期
Chinese Journal of Eco-Agriculture, Jan. 2017, 25(1): 78−85

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.160609

洪珊, 剧虹伶, 阮云泽, 卢明, 王蓓蓓, 赵艳, 邓燕, 尹黎燕. 茄子与香蕉轮作配施生物有机肥对连作蕉园土壤微生物区系的影响[J]. 中国生态农业学报, 2017, 25(1): 78−85
Hong S, Ju H L, Ruan Y Z, Lu M, Wang B B, Zhao Y, Deng Y, Yin L Y. Effect of eggplant-banana rotation with bioorganic fertilizer treatment on soil microflora in banana continuous cropping orchard [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2017, 25(1): 78−85

茄子与香蕉轮作配施生物有机肥对连作蕉园土壤微生物区系的影响*

洪 珊, 剧虹伶, 阮云泽, 卢 明, 王蓓蓓, 赵 艳**, 邓 燕, 尹黎燕

(海南大学农学院 海口 570228)

摘 要: 连作现象在香蕉生产上非常普遍, 而长期连作会导致严重的连作障碍。本文针对香蕉连作障碍, 选择连作香蕉 13 年的地块, 采用常规方法结合变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)技术, 在田间条件下研究了轮作茄子配施生物有机肥对高发枯萎病连作蕉园土壤可培养微生物数量、土壤化学性状以及土壤细菌群落结构的影响。结果表明: 与连作香蕉相比, 轮作茄子处理可显著降低可培养尖孢镰刀菌数量, 使其数量从种植初的 10^4 cfu·g^{-1}(干土)下降到 10^3 cfu·g^{-1}(干土), 同时提高了土壤 pH, 增加了土壤有机质、速效钾、碱解氮含量。无论是轮作还是连作种植模式, 与配施普通有机肥相比, 配施生物有机肥对可培养尖孢镰刀菌、真菌和细菌数量影响均不显著; 但在轮作模式下, 施用生物有机肥处理的细菌数量与真菌数量比值(B/F, 381.2)显著高于配施普通有机肥处理(270.3)。PCR-DGGE 分析结果表明, 轮作茄子配施生物有机肥显著改变了土壤细菌群落结构, 增加了细菌丰度、稳定性和多样性, 其中多样性指数(Shannon-Wiener 指数, 3.22)较连作香蕉配施普通有机肥处理(2.89)显著增加。以上结果表明, 茄子与香蕉轮作有利于连作蕉园土壤的微生态环境, 同时轮作配施生物有机肥效果更优。

关键词: 茄子; 香蕉; 轮作; 生物有机肥; 土壤微生物区系
中图分类号: Q939.96 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2017)01-0078-08

Effect of eggplant-banana rotation with bioorganic fertilizer treatment on soil microflora in banana continuous cropping orchard*

HONG Shan, JU Hongling, RUAN Yunze, LU Ming, WANG Beibei, ZHAO Yan**, DENG Yan, YIN Liyan

(College of Agronomy, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: Banana *Fusarium* wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4, has been reported to be the most limiting factor in *Cavendish*-banana production worldwide since 1996. With the development of banana industry and regularization of produce in recent years, continuous banana cropping has become a common farming system. Furthermore,

---

* 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2015CB1505030)、国家自然科学基金项目(31372142)、海南耕地改良关键技术研究与示范专项(HNGDg1201502)和江苏省固体有机废弃物资源化高技术研究重点实验室项目(BM201101302)资助
** 通讯作者: 赵艳, 主要研究方向为土壤微生物。E-mail: 23065041@qq.com
洪珊, 主要研究方向为土壤生态效应。E-mail: hongshanhn@163.com
收稿日期: 2016-07-08 接受日期: 2016-09-08

* The study was funded by the National Program on Key Basic Research Project of China (973 Program) (2015CB1505030), the National Natural Science Foundation of China (31372142), the Special Project for Technology of Farmland Improvement of Hainan Province of China (HNGDg1201502) and Jiangsu Key Lab for Solid Organic Waste Utilization (BM201101302).
** Corresponding author, E-mail: 23065041@qq.com
Received Jul. 8, 2016; accepted Sep. 8, 2016

Cavendish-banana production comprises of about 90% of banana growing areas in south China, of which more than 200 000 hm^2 banana orchards have suffered the disease. Among the management control of *Fusarium* wilt, rational crop rotation in combination with bio-organic fertilizer has been an effective and stable means of prevention of the disease. In this study, eggplant-banana rotation system was used to investigate the effect of cultivating eggplants combining bio-organic fertilizer on soil microflora in banana continuous cropping orchard with serious *Fusarium* wilt diseases using the plate count method and denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE) technique. The chemical properties of the soil were also analyzed in the experiment. Results showed that the effects of application of bio-organic fertilizer on the number of culturable *F. oxysporum*, fungi and bacteria for both continuous cropping system and rotation with eggplant system of banana were not extremely significant compared with those of organic fertilizer treatment. However, compared with continuous cropping banana, rotation with eggplant of banana significantly reduced the number of culturable *F. oxysporum*, the number of culturable *F. oxysporum* decreased from 10^4 cfu·g^{-1} to 10^3 cfu·g^{-1} in dry soils. Despite no observed significant differences in soil physico-chemical properties between bio-organic fertilizer and organic fertilizer treatments of the eggplant-banana rotation system, soil pH, organic matter and available N, P and K contents increased under bio-organic fertilizer treatment. The ratio of bacteria to fungi (B/F) in eggplant-banana rotation system was significantly higher in bio-organic fertilizer than that in organic fertilizer treatment. Based on DGGE results, soil bacterial structure was obviously altered after eggplant-banana rotation with bio-organic fertilizer treatment for a year, and then soil bacterial richness, stability and diversity index increased compared with the control (continuous cropping of banana). The effect of eggplant-banana rotation system under bio-organic fertilizer treatment was good, and had a diversity index (Shannon-Wiener) of 3.22, while the control treatment with organic fertilizer had a diversity index of 2.89. In conclusion, the rotation of eggplant with banana could effectively improve soil microflora, and plus bio-organic fertilizer application even had a better effect.
Keywords: Eggplant; Banana; Crop rotation; Bio-organic fertilizer; Soil microflora

香蕉(*Musa nana*)由于经济效益稳定，连续种植现象严重，导致香蕉园发生以香蕉土传枯萎病为首的严重的连作生物障碍[1]。据报道，广东和海南两省仅 2010 年就有超过 20 万 hm^2 的香蕉园因感染香蕉枯萎病而遭受重大经济损失[2]。香蕉种植主产区也由海南、广东转移至云南、广西等地。由于天气条件的限制，我国可种植香蕉的耕地面积原本就少，若不采取有效的防治措施，我国香蕉产业将面临严峻形势。

目前国内外解决高发病蕉园连作障碍的有效措施包括选育抗病品种、合理轮作、施用生物有机肥和化学熏蒸等[3-4]。轮作可以提高土壤细菌群落的多样性，同时因大多数病原菌都是专性寄生，轮作可以改变寄主，减轻病害的发生，还可以减轻自毒作用[5]。目前为连作蕉园选择合适的作物进行轮作，建立科学的香蕉轮作制度是缓解香蕉连作障碍最有效的措施[6]。香蕉与菠萝(*Ananas comosus*)、水稻(*Oryza sativa*)、木薯(*Manihot esculentat*z)轮作均可降低连作蕉园土壤中病原菌的数量，有效改善连作蕉园土壤的微生物环境[7-9]。

有研究结果表明[10-13]，生物有机肥通过众多有益细菌的拮抗作用和定殖能力，可以改善连作蕉园土壤微生物群落结构和理化性质，提高蕉园土壤微生物活性。Zhang 等[14]和胡伟等[15]发现，香蕉与韭菜(*Allium tuberosum*)轮作或套种配施生物有机肥能够有效增加土壤中可培养细菌数量，减少尖孢镰刀菌数量。茄子(*Solanum melongena*)作为海南省主要冬季瓜菜，具有较大经济价值。赵娜等[16]通过盆栽试验提出，茄子与香蕉轮作比香蕉连作能显著降低根际土壤中尖孢镰刀菌和真菌的数量，增加土壤中可培养细菌数量，改善土壤微生物区系失衡现象。然而，在田间状况下，轮作茄子对连作蕉园土壤微生物群落结构及土壤理化性质的影响以及茄子轮作配施生物有机肥对连作蕉园土壤微生物区系的影响却鲜见报道。为此，本研究利用常规方法结合变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)，分析了大田轮作茄子配施生物有机肥对连作蕉园土壤微生物区系的影响，以期为连作障碍蕉园土壤修复和建立香蕉合理的轮作制度提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　供试材料

供试土壤为海相沉积物发育的燥红土，连作香蕉 13 年，土壤基本理化性质: pH 5.94，土壤速效磷 146.0 mg·kg^{-1}，速效钾 113.0 mg·kg^{-1}，碱解氮 38.3 mg·kg^{-1}，有机质 9.8 g·kg^{-1}。

供试茄子品种为‘长丰 2 号’，由中国热带农业科学院品种资源研究所蔬菜研究室戚志强博士提供。供试香蕉苗品种为‘农科 1 号’(中感巴西蕉品种)，由海南省万钟实业有限公司提供。

供试普通有机肥为 70%腐熟鸡粪和 30%菜粕堆制而成，含 N 1.21%，P_2O_5 2.44%，K_2O 1.01%。供试 BIO 生物有机肥自行堆制，将对香蕉枯萎病病原菌有显著拮抗作用的解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens* W19，由江苏省固体有机废弃物资源化利用高技术研究重点实验室提供)接种到腐熟普通有机肥经二次固体堆制而成，含 N 1.15%，P_2O_5 2.52%，K_2O 1.13%。

1.2 试验设计

大田试验于 2015 年 1 月至 2016 年 1 月在海南省万钟实业有限公司农场中进行。供试田块已连续种植香蕉 13 年，香蕉枯萎病发病率>60%。试验由 2 种肥料(普通有机肥与 BIO 生物有机肥)和 2 种种植模式(连作香蕉模式与茄子–香蕉轮作模式)构成，共设 4 个处理：1)轮作茄子+普通有机肥(E-OF)；2)轮作茄子+生物有机肥(E-BF)；3)连作香蕉+普通有机肥(B-OF)；4)连作香蕉+生物有机肥(B-BF)。每个处理 3 次重复。试验区共有 12 个独立小区，每小区面积为 4 m×20 m=80 m^2，小区起垄种植，垄宽 4 m，垄高 30 cm。相互间不透水、不透肥。完全随机排列。本试验在上茬香蕉收获后，于 2015 年 1—4 月轮换种植茄子第 1 季，2015 年 10 月—2016 年 1 月种植第 2 季，株行距为 50 cm×100 cm。香蕉则同时从 2015 年 1 月种植至 2016 年 1 月(继续连作 1 年)，株行距为 150 cm×200 cm。本试验条件下，2015 年 4 月为第 1 季茄子收获期，2016 年 1 月为第 2 季茄子收获期。香蕉收获时间则为 2016 年 1 月。普通有机肥和生物有机肥施用量为 834 kg·667m^{-2}，全部作为基肥一次性旋入大田。试验区茄子及香蕉大田管理同农场香蕉常规模式，即施入硝酸磷钾肥(22-9-9)30 kg·667m^{-2}、尿素 45 kg·667m^{-2}、复合肥(15-15-15)30 kg·667m^{-2}、过磷酸钙 15 kg·667m^{-2}，复合肥及过磷酸钙作为底肥一次性施入，硝酸磷钾及尿素底肥施入全量的 2/3，剩下的 1/3 作为追肥于大苗期及花蕾期均分两次施入。茄子后期追肥同香蕉追肥模式。

1.3 项目测定与方法

1.3.1 土样采集

茄子土样：本试验中茄子的生长周期为 4 个月，每月在小区内按照 S 形选取采样点，用直径 5 cm 土钻采 0~20 cm 表土，各小区随机采 3 个点并混匀为 1 个土样。香蕉土样：各小区随机选取 3 株健康香蕉，用土钻于植株滴水线附近随机选取 3 点钻取距地表约 0~20 cm 表土并混匀为 1 个土样。因茄子生长周期短，香蕉生长周期长，故每月采集茄子土样时同时采集香蕉土样。其中，2015 年 4 月为茄子第 1 季收获期，则视为香蕉中期采样(香蕉大苗期)。每处理 3 次重复，剔除石砾等杂物后过 2 mm 筛，部分样品 4 ℃下保存备用，部分样品风干后用于土壤化学特性的测定。

1.3.2 土壤可培养尖孢镰刀菌、细菌及真菌数量的测定

土壤可培养尖孢镰刀菌、细菌及真菌的数量均通过稀释涂布法测定。可培养尖孢镰刀菌计数使用改良后的 Komada 培养基 K2[15]，28 ℃培养 96 h；细菌采用 Luria-Bertani(LB)培养基，30 ℃培养 24 h；真菌采用马丁氏培养基，28 ℃培养 72 h。将培养后计数平板上形成的菌落数转换成每克干土形成的菌落数(Colony Forming Unit, CFU)，以 log CFU·g^{-1}(干土)表示。各样品中每克干土的细菌菌落数比真菌的菌落数，即为可培养细菌与真菌的 B/F 值。

1.3.3 土壤理化性质的测定

土壤理化性质的测定方法均参照鲍士旦《土壤农化分析》[17]。

1.3.4 土壤总 DNA 提取

称 0.8 g 土壤样品，按照 MOBIO 的强力土壤 DNA 提取试剂盒(Power Soil DNA Isolation kit, USA)说明书提取土壤样品总 DNA，–80 ℃保存备用。

1.3.5 土壤细菌群落结构的测定

土壤细菌群落结构采用变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)进行测定。细菌 PCR 扩增采用 16S rDNA 通用引物 F338-GC 和 R518 进行扩增[18]。采用 D-Code 点突变检测系统(D Code Universal Mutation Detection System, BIO-RAD, USA)对 PCR 产物 DGGE 分析。聚丙烯酰胺凝胶浓度为 8%，细菌变性剂梯度为 40%~60%(100%变性剂为 7 mol·L^{-1} 尿素和 40%去离子甲酰胺的混合物)。电泳条件：80 V 电压、60 ℃恒温电泳 16 h，电泳结束后银染胶片并扫描保存。

1.4 数据分析

数据统计分析使用 Microsoft Excel 和 SPSS 21.0，通过 Duncan 新复极差法检验处理间差异显著性水平(α=0.05)。DGGE 电泳图谱分析采用 Quantity One 4.4.0 软件进行条带检测和强度分析，通过非加权组平均法(UPGMA)进行图谱聚类分析。其中，香农多样性指数(H', Shannon diversity index)、稳定性指数(S, Stability)计算公式为：

$$H' = -\sum P_i \ln P_i \quad (1)$$

$$S=\sum(P_i/P_i\max)/n \quad (2)$$

式中：P_i 为 DGGE 条带 i 的相对丰度，即一个泳道中第 i 个条带的光密度占整个泳道中所有条带光密度总和的比率；$P_i$max 为群落中相对丰度最大的条带；i、n 是 DGGE 胶片上的样品数。

2　结果与分析

2.1　轮作茄子配施生物有机肥对连作蕉园土壤可培养微生物的影响

2.1.1　对连作蕉园土壤尖孢镰刀菌数量的影响

由图 1a 可知, 在整个轮作过程中, 4 个处理尖孢镰刀菌数量呈先上升后下降的趋势。在第 1 季中, 4 月份收获期时与连作香蕉相比, 与茄子轮作配施生物有机肥处理(E-BF)的香蕉园土壤中尖孢镰刀菌数量显著下降, 从种植初的 10^4 cfu·g^{-1}(干土)下降到 10^3 cfu·g^{-1}(干土), 但与茄子配施普通有机肥处理相比, 差异不显著。连续种植第 2 季茄子, 轮作茄子处理土壤中尖孢镰刀菌显著低于第 1 季, 但普通有机肥和生物有机肥差异不显著。而在整个轮作周期中连作香蕉处理土壤尖孢镰刀菌数量一直维持在 10^4 cfu·g^{-1} (干土)。

2.1.2　对连作蕉园土壤细菌数量的影响

由图 1b 可知, 在整个轮作过程中, 第 1 季茄子可培养细菌数量总体较第 2 季多, 呈先上升后下降趋势。在第 1 季中, 4 月份收获期时与连作香蕉相比, 茄子轮作配施生物有机肥处理(E-BF)可培养细菌数量高达 3.7×10^7 cfu·g^{-1}(干土), 但与轮作茄子配施普通有机肥处理差异不显著。连续种植第 2 季茄子, 轮作茄子配施生物有机肥与配施普通有机肥处理差异不显著, 均为 1.6×10^7 cfu·g^{-1}(干土)。连作香蕉 B-OF、B-BF 处理差异也不显著。但轮作茄子(E-OF、E-BF)处理中可培养细菌数量显著高于连作香蕉(B-OF、B-BF)处理, 分别较 B-OF 和 B-BF 高 62.7%和 60.7%。

2.1.3　对连作蕉园土壤真菌数量的影响

图 1c 可知, 在整个轮作过程中, 4 个处理真菌数量呈现先上升后下降的趋势。在第 1 季中, 4 月份收获期时与连作香蕉相比, 轮作茄子配施生物有机肥处理(E-BF)显著低于其他 3 个处理, 真菌数量下降到 10^4 cfu·g^{-1}(干土)。连续种植第 2 季茄子, 轮作茄子处理的真菌数量显著低于第 1 季, 但普通有机肥和生物有机肥差异不显著。香蕉 B-OF、B-BF 处理真菌数量呈显著性差异, 且都显著高于 E-OF、E-BF 处理。结果表明, 与连作香蕉相比, 轮作 1 年茄子能有效降低土壤中可培养真菌的数量。

2.1.4　轮作对连作蕉园土壤细菌/真菌比值(B/F)的影响

由表 1 可知, 在第 1 季中, 4 月份收获期轮作茄子配施生物有机肥处理(E-BF)B/F 数值(381.2)显著高于其他 3 个处理。连续种植第 2 季, 轮作茄子配施生物有机肥处理(E-BF)B/F 值与普通有机肥处理(E-OF)差异不显著, 但都显著高于连作香蕉的 B-OF、B-BF 处理。

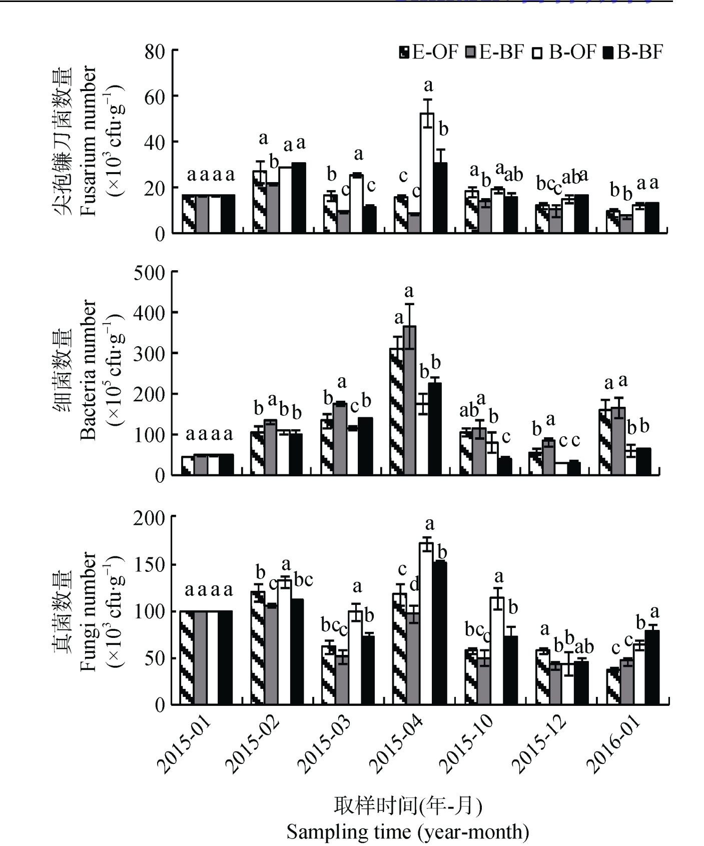


图 1　香蕉与茄子轮作和配合施用生物有机肥对香蕉园土壤尖孢镰刀菌(a)、细菌(b)和真菌(c)数量的影响

Fig. 1　Changes of numbers of soil fusarium (a), bacteria (b) and fungus (c) in banana garden as affected by rotation with eggplant and application of bio-organic fertilizer

E-OF: 轮作茄子配施普通有机肥; E-BF: 轮作茄子配施生物有机肥; B-OF: 连作香蕉配施普通有机肥; B-BF: 连作香蕉配施生物有机肥。不同字母表示不同处理间差异显著(P<0.05)。E-OF: eggplant-banana rotation combining organic fertilizer application; E-BF: eggplant-banana rotation combining bio-organic fertilizer application; B-OF: continuous banana cropping combining organic fertilizer application; B-BF: continuous banana cropping combining bio-organic fertilizer application. Different letters indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$.

表 1　香蕉与茄子轮作和配合施用有机肥对香蕉园土壤 B/F 的影响

Table 1　Changes of the ratio of bacteria to fungi of banana garden soil as affected by rotation with eggplant and application of organic fertilizer

处理 Treatment	第 1 季 First season	第 2 季 Second season
E-OF	270.3±54.7b	433.7±85.8a
E-BF	381.2±71.9a	357.0±28.5a
B-OF	102.0±17.0c	95.2±33.1b
B-BF	146.1±12.3c	83.0±9.4b

E-OF: 轮作茄子配施普通有机肥; E-BF: 轮作茄子配施生物有机肥; B-OF: 连作香蕉配施普通有机肥; B-BF: 连作香蕉配施生物有机肥。不同字母表示不同处理间差异显著(P<0.05)。E-OF: eggplant-banana rotation combining organic fertilizer application; E-BF: eggplant-banana rotation combining bio-organic fertilizer application; B-OF: continuous banana cropping combining organic fertilizer application; B-BF: continuous banana cropping combining bio-organic fertilizer application. Different letters indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$.

2.2 轮作茄子配施生物有机肥对连作蕉园土壤理化性质的影响

由表 2 可知，在整个轮作过程中，轮作茄子配施生物有机肥处理(E-BF)、轮作茄子配施普通有机肥处理(E-OF)的土壤 pH、有机质含量在 2 季收获期都显著高于 B-OF、B-BF 处理，且 OF 与 BF 处理差异不显著。而在整个轮作周期中香蕉连作土壤的 pH 都一直维持在酸性土壤状态。

土壤速效养分含量方面，第 1 季中，E-OF 处理的速效钾养分含量最高，达 229.3 mg·kg^{-1}，且显著高于其他 3 个处理。E-OF、E-BF 处理速效磷含量差异不显著。轮作茄子配施生物有机肥处理(E-BF)碱解氮含量显著高于其他处理。第 2 季中，E-OF、E-BF 处理速效钾含量差异不显著，但都显著高于香蕉连作处理。表明与连作香蕉相比，采取茄子轮作模式能在一定程度上提高土壤的有机质含量，调节连作香蕉土壤酸碱度，且有利于改善连作蕉园土壤养分利用状况，提高土壤养分供给水平。

表 2 香蕉与茄子轮作和配合施用生物有机肥对香蕉园土壤理化性质的影响

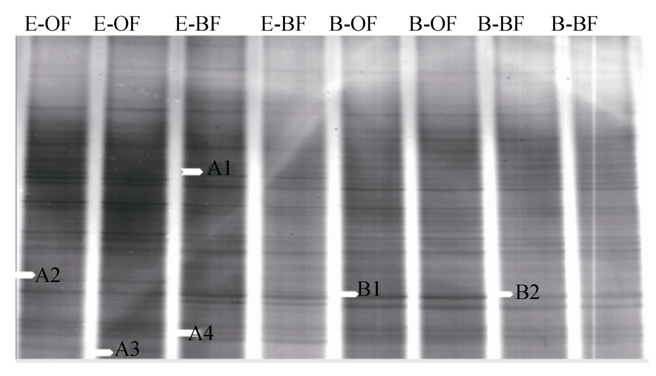
Table 2 Changes of soil physicochemical properties of banana garden as affected by rotation with eggplant and application of bio-organic fertilizer

处理 Treatment	pH		有机质 Organic matter (g·kg^{-1})		速效磷 Available P (mg·kg^{-1})		速效钾 Available K (mg·kg^{-1})		碱解氮 Available N (mg·kg^{-1})	
	第 1 季 First season	第 2 季 Second season	第 1 季 First season	第 2 季 Second season	第 1 季 First season	第 2 季 Second season	第 1 季 First season	第 2 季 Second season	第 1 季 First season	第 2 季 Second season
E-OF	6.8±0.3a	6.9±0.2a	11.9±0.4a	16.1±1.2a	219.3±8.7b	153.3±2.6b	229.3±9.1a	189.2±13.5a	43.6±1.4b	51.3±1.4a
E-BF	6.7±0.2a	7.0±0.1a	11.8±0.5a	15.4±0.3a	227.4±6.0b	153.7±2.5b	216.8±10.3b	198.5±15.5a	52.8±5.7a	48.7±1.5b
B-OF	5.5±0.1b	5.7±0.2c	9.5±0.7b	10.7±0.5b	195.7±4.1c	143.0±6.5c	157.5±11.5c	114.6±16.7c	31.3±1.9c	38.1±0.9d
B-BF	5.4±0.3b	6.1±0.1b	11.9±1.0a	11.1±0.2b	298.2±9.9a	172.6±2.6a	150.2±2.7c	152.4±13.0b	41.7±1.5b	42.2±1.0c

E-OF: 轮作茄子配施普通有机肥; E-BF: 轮作茄子配施生物有机肥; B-OF: 连作香蕉配施普通有机肥; B-BF: 连作香蕉配施生物有机肥。不同字母表示不同处理间差异显著(P<0.05)。E-OF: eggplant-banana rotation combining organic fertilizer application; E-BF: eggplant-banana rotation combining bio-organic fertilizer application; B-OF: continuous banana cropping combining organic fertilizer application; B-BF: continuous banana cropping combining bio-organic fertilizer application. Different letters indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$.

2.3 轮作茄子配施生物有机肥对连作蕉园土壤细菌多样性的影响

根据变性梯度凝胶电泳分离原理，对DGGE图谱进行统计发现，无论第1季(图2a)还是第2季(图2b)收获期，各处理在DGGE图谱中的电泳条带数目、位置、亮度和迁移率存在一定程度的差异。在第1季(图2a)图谱中，轮作茄子E-OF、E-BF处理条带有很强的相似性，并且还多了一些特异性条带A1、A2、A3、A4。而香蕉连作处理条带B1、B2亮度降低。在第2季(图2b)图谱中，茄子轮作的E-OF、E-BF处理条带有极强的相似性，而香蕉的B-OF、B-BF也有很强的相似性。条带a3是轮作茄子处理的共有条带，亮度最亮，而其在香蕉连作处理中并未出现。a1、a2条带是茄子E-OF处理的特异性条带，a4、a5条带是茄子E-BF的特异性条带。b2是香蕉B-OF、B-BF共有条带，但在OF处理亮度最亮。



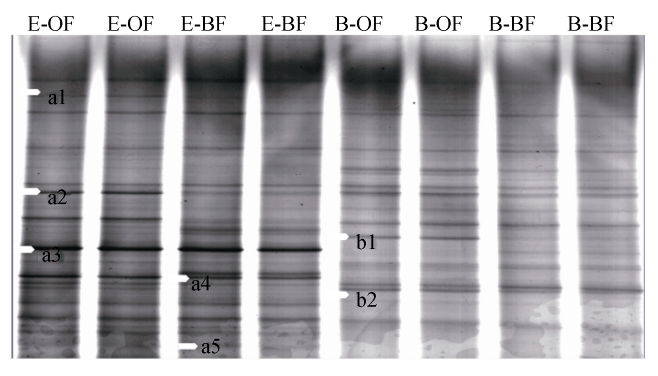


图 2 香蕉与茄子轮作和配合施用生物有机肥下茄子第 1 季(a)和第 2 季(b)收获期香蕉园土壤总细菌的群落结构 DGGE 图谱

Fig. 2 Total soil bacteria DGGE fingerprints at the first (a) and second (b) season harvests of eggplant of banana garden as affected by rotation with eggplant and application of bio-organic fertilizer

E-OF: 轮作茄子配施普通有机肥; E-BF: 轮作茄子配施生物有机肥; B-OF: 连作香蕉配施普通有机肥; B-BF: 连作香蕉配施生物有机肥。E-OF: eggplant-banana rotation combining organic fertilizer application; E-BF: eggplant-banana rotation combining bio-organic fertilizer application; B-OF: continuous banana cropping combining organic fertilizer application; B-BF: continuous banana cropping combining bio-organic fertilizer application.

基于 UPGMA 的土壤总细菌 DGGE 聚类分析结果如图 3 所示, 无论是第 1 季(图 3a)还是第 2 季(图 3b)收获期, 都是轮作茄子(E-OF、E-BF)聚成一簇、连作香蕉(B-OF、B-BF)聚成一簇。在第 1 季收获期, 轮作茄子聚类相似系数为 0.37, 连作香蕉聚类相似系数为 0.35。第 2 季收获期, 轮作茄子聚类相似系数高达 0.87, 而连作香蕉聚类相似系数为 0.79, 说明这两个处理的群落结构相似程度较高。聚类分析的结果表明, 轮作茄子模式改变了土壤细菌的群落结构, 第 1 季结果不太明显, 第 2 季聚类结果尤为显著。

由表 3 基于土壤细菌的 DGGE 图谱的丰富度、多样性和稳定性指数分析表明, 无论第 1 季还是第 2 季轮作茄子 E-OF、E-BF 处理的土壤总细菌的丰富度、多样性指数显著高于 B-OF、B-BF 处理。

0.30　0.40　0.50　0.60　0.70　0.80　0.90　1.00
0.49　B-BF
0.35
0.59　B-OF
0.30
0.44　E-BF
0.37
0.46　E-OF

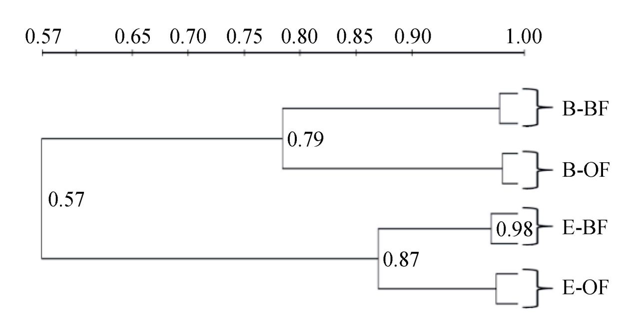


图 3　与茄子轮作和配合施用生物有机肥下茄子第 1 季(a)和第 2 季(b)收获期香蕉园土壤总细菌的 DGGE 聚类分析图

Fig. 3　Cluster diagrama of total soil bacteria DGGE fingerprints at the first (a) and second (b) season harvests of eggplant of banana garden as affected by rotation with eggplant and application of bio-organic fertilizer

E-OF: 轮作茄子配施普通有机肥; E-BF: 轮作茄子配施生物有机肥; B-OF: 连作香蕉配施普通有机肥; B-BF: 连作香蕉配施生物有机肥。E-OF: eggplant-banana rotation combining organic fertilizer application; E-BF: eggplant-banana rotation combining bio-organic fertilizer application; B-OF: continuous banana cropping combining organic fertilizer application; B-BF: continuous banana cropping combining bio-organic fertilizer application.

表 3　轮作茄子和配合施用生物有机肥下香蕉园土壤细菌的丰富度(*R*)、稳定性指数(*S*)和多样性指数(*H′*)

Table 3　Changes of soil bacteria richness, stability and diversity of banana garden as affected by rotation with eggplant and application of bio-organic fertilizer

处理 Treatment	丰富度 Richness		稳定性 Stability		多样性指数 Diversity index	
	第 1 季 First season	第 2 季 Second season	第 1 季 First season	第 2 季 Second season	第 1 季 First season	第 2 季 Second season
E-OF	30.50±0.70a	24.00±0.00a	0.68±0.10a	2.74±0.06a	2.80±0.00a	3.18±0.00b
E-BF	29.00±0.00b	25.00±0.00a	0.83±0.19a	2.79±0.00a	2.87±0.01a	3.22±0.00a
B-OF	21.00±0.00c	18.00±0.00b	0.51±0.17a	2.03±0.01c	2.45±0.11b	2.89±0.00d
B-BF	20.00±0.00c	19.00±0.00b	0.67±0.02a	2.21±0.02b	2.51±0.06b	2.94±0.00c

E-OF: 轮作茄子配施普通有机肥; E-BF: 轮作茄子配施生物有机肥; B-OF: 连作香蕉配施普通有机肥; B-BF: 连作香蕉配施生物有机肥。不同字母表示不同处理间差异显著(P<0.05)。E-OF: eggplant-banana rotation combining organic fertilizer application; E-BF: eggplant-banana rotation combining bio-organic fertilizer application; B-OF: continuous banana cropping combining organic fertilizer application; B-BF: continuous banana cropping combining bio-organic fertilizer application. Different letters indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$.

3　讨论与结论

同一作物长期连作易造成连作障碍, 生物多样性匮乏和生物群落结构改变, 并加快土传病害病原菌的繁殖[19]。赵娜等[16]盆栽试验研究结果表明, 与茄子轮作能显著降低枯萎病蕉园土壤中尖孢镰刀菌和真菌的数量, 增加土壤中可培养的细菌数量, 改善土壤微生物区系失衡的现象。

本研究进行了大田轮作 1 年茄子配施生物有机肥对高发病连作蕉园土壤微生态的影响试验。田间试验表明: 轮作茄子 1 年后, 土壤中的尖孢镰刀菌、真菌数量显著降低, 总细菌数量显著增加。这与赵娜等[16]报道的研究结果一致。这一结果可能与茄子根系分泌物中的化感物质能促进土壤中细菌生长, 抑制真菌生长有关[20]。付琳等[21]报道, 施用由解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)NJN-6 二次发酵而成的生物肥料 1 年, 能够有效防控香蕉枯萎病的发生。Wang 等[22]报道由解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)W19 二次发酵而成的生物肥料能够降低尖孢镰刀菌 4 号生理小种的数量。

Shen 等[23]和钟书堂等[24]研究结果表明, 连续 2 年在连作障碍严重的蕉园施用大量生物有机肥, 显著增加了可培养细菌、芽孢杆菌数量, 减少了尖孢镰刀菌的数量并改良了可培养细菌的群落结构及组

成。而本试验仅在高发病蕉园土壤中施用 1 年由 W19 功能菌发酵而成的生物肥料，土壤中可培养的微生物数量影响效果与配施普通有机肥差异不显著。可能是由于高发病蕉园土壤微生物区系已达到某种稳定状态，轮作时间和施肥时间有限。

细菌/真菌比值(B/F)是土壤微生物生态的重要指标，常被用来判断微生物群落结构的变化[25]。Liu 等[26]表明，B/F 随着土壤肥力增高而增大；Yao 等[27]研究表明，高 B/F 土壤的抑病能力强。本研究中，轮作完 1 季茄子后可培养细菌数量增加，真菌和尖孢镰刀菌数量下降，轮作配施生物有机肥处理 B/F 值显著高于配施普通有机肥和香蕉连作处理，表明茄子轮作配施生物有机肥增加了土壤肥力。

肖新等[28]报道，菊麦轮作可在一定程度上提高连作土壤 pH，提高土壤有机质含量，对减轻连作障碍具有积极作用。胡凤霞[29]研究也表明，合理轮作有利于降低土壤容重，进而减少土壤 EC 值，从而对酸性土壤有一定的改善作用。郑超等[30]认为轮作可以增加土壤有机质和土壤养分含量，加速速效养分的释放。本研究中，通过轮作茄子后，连作蕉园土壤的理化性质与香蕉连作相比，都有显著提高。这与前人研究结果一致。

通过平板稀释涂布已经证实了轮作茄子能够降低可培养病原菌数量，且对其他微生物数量也有影响，但其对土壤微生物群落结构的影响仍然未知[16]。PCR-DGGE 技术自 Muyzer 1993 年首次应用于土壤微生物生态的研究后，一直广泛用于微生物分子生态学研究的各个领域，目前已经发展成为研究微生物群落结构的主要分子生物学方法之一[18]。目前国内外尚鲜见有关 DGGE 切胶测序鉴定在高发病蕉园轮作茄子配施生物有机肥处理后土壤微生物区系变化的报道。本研究首次利用 PCR-DGGE 技术研究茄子配施生物有机肥处理土壤总细菌群落结构变化。结果表明：轮作茄子后，较连作香蕉相比，细菌 DGGE 图谱上一些条带明显增强，并且增加了土壤总细菌群落的丰度、稳定性和多样性。DGGE 的聚类分析图也表明轮作茄子后土壤群落出现了明显差异。本研究与于高波等[31]报道相似，小麦–黄瓜轮作对定植后 30 d 土壤细菌群落结构具有一定的影响，有利于缓解黄瓜连作障碍，改善土壤微生态环境。

本研究未进行条带切胶测序，未来需要进一步利用其他高通量测序方法，系统研究轮作茄子后土壤微生物区系的变化以及轮作配施生物有机肥处理前后土壤总细菌的主要类群以及优势种群。

综上所述，在连作障碍严重的蕉园轮作茄子配施生物有机肥处理，可显著降低可培养尖孢镰刀菌和真菌数量，增加可培养细菌的数量，并且可以提高土壤 B/F 值。在提高土壤理化性质的同时对土壤的细菌群落结构也产生了影响，推测这些变化将有利于连作蕉园土壤向着健康的生态效应方向发展。

参考文献 References

[1] 李赤，黎永坚，于莉，等. 香蕉枯萎病菌毒素对香蕉叶片超微结构的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2011, 33(2): 158–164
Li C, Li Y J, Yu L, et al. Effects of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* toxin on the ultrastructure of banana leaves[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2011, 33(2): 158–164

[2] Xu L B, Huang B Z, Wu Y L, et al. The cost-benefit analysis for bananas diversity production in China Foc. zones[J]. American Journal of Plant Sciences, 2011, 2(4): 561–568

[3] Sivamani E, Gnanamanickam S S. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in banana by inoculation with *Pseudomonas fluorescens*[J]. Plant and Soil, 1988, 107(1): 3–9

[4] Raguchander T, Jayashree K, Samiyappan R. Management of *fusarium* wilt of banana using antagonistic microorganisms[J]. Journal of Biological Control, 1997, 11(1/2): 101–105

[5] 张爱君，张明普，张洪源. 果树苗圃土壤连作障碍的研究初报[J]. 南京农业大学学报, 2002, 25(1): 19–22
Zhang A J, Zhang M P, Zhang H Y. A study on soil constraints by prolonged plantation of fruit tree seedling[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2002, 25(1): 19–22

[6] 欧阳娴，阮小蕾，吴超，等. 香蕉轮作和连作土壤细菌主要类群[J]. 应用生态学报, 2011, 22(6): 1573–1578
Ouyang X, Ruan X L, Wu C, et al. Main bacterial groups in banana soil under rotated and continuous cropping[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, 22(6): 1573–1578

[7] Wang B B, Li R, Ruan Y Z, et al. Pineapple-banana rotation reduced the amount of *Fusarium oxysporum* more than maize-banana rotation mainly through modulating fungal communities[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 86: 77–86

[8] 辛侃，赵娜，邓小垦，等. 香蕉–水稻轮作联合添加有机物料防控香蕉枯萎病研究[J]. 植物保护, 2014, 40(6): 36–41
Xin K, Zhao N, Deng X K, et al. Effects of rice rotation incorporated with organic materials on suppression of banana fusarium wilt disease[J]. Plant Protection, 2014, 40(6): 36–41

[9] 柳红娟，黄洁，刘子凡，等. 木薯轮作年限对枯萎病高发蕉园土壤抑病性的影响[J]. 西南农业学报，2016，29(2): 255–259
Liu H J, Huang J, Liu Z F, et al. Effects of different years of cassava rotation on soil disease suppression in high incidence banana plantations[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2016, 29(2): 255–259

[10] Miaa M A B, Shamsuddin Z H, Wahab Z, et al. Rhizobacteria as bioenhancer and biofertilizer for growth and yield of banana (*Musa* spp. cv. 'Berangan')[J]. Scientia Horticulturae, 2010, 126(2): 80–87

[11] Kavino M, Harish S, Kumar N, et al. Effect of chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (*Musa* spp.) under field conditions[J]. Applied Soil Ecology, 2010, 45(2): 71–77

[12] Kupper K C, Bettiol W, de GoesA, et al. Biofertilizer for control of *Guignardia citricarpa*, the causal agent of citrus black spot[J]. Crop Protection, 2006, 25(6): 569–573

[13] Zhang N, He X, Zhang J, et al. Suppression of fusarium wilt of banana with application of bio-organic fertilizers[J]. Pedosphere, 2014, 24(5): 613–624

[14] Zhang H, Mallik A, Zeng R S. Control of panama disease of banana by rotating and intercropping with Chinese chive (*Allium Tuberosum* Rottler): Role of plant volatiles[J]. Journal of Chemical Ecology, 2013, 39(2): 243–252

[15] 胡伟, 赵兰凤, 张亮, 等. 不同种植模式配施生物有机肥对香蕉枯萎病的防治效果研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(3): 742–748
Hu W, Zhao L F, Zhang L, et al. Effects of combining bioorganic fertilizer with different cropping systems on controlling fusarium wilt disease of banana[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2012, 18(3): 742–748

[16] 赵娜, 李荣, 辛侃, 等. 茄科蔬菜轮作对高发枯萎病蕉园土壤可培养微生物的影响[J]. 热带作物学报, 2014, 35(8): 1469–1474
Zhao N, Li R, Xin K, et al. Effects of different Solanaceae crop rotations on the soil culturable microbes in an orchard with serious fusarium wilt disease[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2014, 35(8): 1469–1474

[17] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000
Bao S D. Soil Analysis in Agricultural Chemistry[M]. 3rd ed. Beijing: China Agricultural Press, 2000

[18] Muyzer G, de Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(3): 695–700

[19] 薛超, 黄启为, 凌宁, 等. 连作土壤微生物区系分析、调控及高通量研究方法[J]. 土壤学报, 2011, 48(3): 612–618
Xue C, Huang Q W, Ling N, et al. Analysis, regulation and high-throughput sequencing of soil microflora in mono-cropping system[J]. Acta Pedologica Sinica, 2011, 48(3): 612–618

[20] 周宝利, 刘娜, 叶雪凌, 等. 嫁接茄子根系分泌物变化及其对黄萎菌的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(3): 749–759
Zhou B L, Liu N, Ye X L, et al. Effect of grafting eggplant on root exudates and disease resistance under *Verticillium dahliae* stress[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(3): 749–759

[21] 付琳, 阮云泽, 沈宗专, 等. 生物有机肥对连作香蕉根际土壤可培养细菌区系的影响[J]. 南京农业大学学报, 2012, 35(6): 82–88
Fu L, Ruan Y Z, Shen Z Z, et al. Effects of bio-organic fertilizer on the community structure of culturable bacteria in the rhizosphere soil of a continuous-cropping banana filed[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2012, 35(6): 82–88

[22] Wang B B, Yuan J, Zhang J, et al. Effects of novel bioorganic fertilizer produced by *Bacillus amyloliquefaciens* W19 on antagonism of *Fusarium* wilt of banana[J]. Biology and Fertility of Soils, 2013, 49(4): 435–446

[23] Shen Z Z, Ruan Y Z, Xue C. Rhizosphere microbial community manipulated by 2 years of consecutive biofertilizer application associated with banana *Fusarium* wilt disease suppression[J]. Biology and Fertility of Soils, 2015, 51(5): 553–562

[24] 钟书堂, 沈宗专, 孙逸飞, 等. 生物有机肥对连作蕉园香蕉生产和土壤可培养微生物区系的影响[J]. 应用生态学报, 2015, 26(2): 481–489
Zhong S T, Shen Z Z, Sun Y F, et al. Effects of continuous application of bio-organic fertilizer on banana production and cultural microflora of bulk soil in orchard with serious disease incidence[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26(2): 481–489

[25] Frey S D, Elliott E T, Paustian K. Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31(4): 573–585

[26] Liu X B, Herbert S J. Fifteen years of research examining cultivation of continuous soybean in northeast China: A review[J]. Field Crops Research, 2002, 79(1): 1–7

[27] Yao H Y, Wu F Z. Soil microbial community structure in cucumber rhizosphere of different resistance cultivars to fusarium Wilt[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2010, 72(3): 456–463

[28] 肖新, 朱伟, 杜超, 等. 轮作与施肥对滁菊连作土壤微生物特性的影响[J]. 应用生态学报, 2015, 26(6): 1779–1784
Xiao X, Zhu W, Du C, et al. Effects of crop rotation and bio-organic manure on soil microbial characteristics of *Chrysanthemum* cropping system[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26(6): 1779–1784

[29] 胡凤霞. 设施黄瓜–玉米轮作模式对连作障碍的克服效果[D]. 郑州: 河南农业大学, 2013
Hu F X. The research of cucumber-corn crop rotation mode to overcome continuous cropping obstacles effect[D]. Henan Agricultural University, 2013

[30] 郑超, 廖宗文, 谭中文, 等. 菠萝–甘蔗轮作的土壤生态效应[J]. 生态科学, 2003, 22(3): 248–249
Zheng C, Liao Z W, Tan Z W, et al. Effects of the crop rotation of pineapples-sugarcane on soil ecology[J]. Ecologic Science, 2003, 22(3): 248–249

[31] 于高波, 吴凤芝, 周新刚. 小麦、毛苕子与黄瓜轮作对土壤微生态环境及产量的影响[J]. 土壤学报, 2011, 48(1): 175–184
Yu G B, Wu F Z, Zhou X G. Effects of rotations of cucumber with wheat and hairy vetch on soil micro-ecological environment and its yield[J]. Acta Pedologica Sinica, 2011, 48(1): 175–184